



*Sveriges lantbruksuniversitet*

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

# VTEC O157 hos får

– en jämförelse av stammar isolerade från får,  
nötkreatur och människa

Anna Nilsson

*Uppsala*

2011

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2011:39



# VTEC O157 hos får

– en jämförelse av stammar isolerade från får,  
nötkreatur och människa

Anna Nilsson

*Handledare: Madeleine Tråven, Institutionen för kliniska vetenskaper*  
*Biträdande Handledare: Anna Aspán, Avdelningen för bakteriologi, SVA*  
*Examinator: Bernt Jones, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2011*  
*Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap*  
*Institutionen för kliniska vetenskaper*  
*Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

*Nyckelord: VTEC O157, Verotoxinproducerande E.coli O157, EHEC, får*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>*  
*ISSN 1652-8697*  
*Examensarbete 2011:39*



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Summary .....	1
Sammanfattning .....	1
Inledning .....	1
Litteraturoversikt.....	2
Historik .....	2
VTEC-bakterien .....	2
Smittkällor.....	3
VTEC hos människa .....	4
VTEC hos djur .....	4
Syfte .....	5
Material och metoder .....	6
Djurmateriel .....	6
Humanmateriel.....	7
Analys .....	7
PFGE.....	7
MLVA.....	7
Resultat .....	8
PFGE metoden .....	8
MLVA metoden .....	11
Diskussion.....	13
Litteraturförteckning .....	15

## SUMMARY

Verocytotoxin-producing *E. coli*, VTEC is a zoonotic pathogen that can cause serious disease in humans. Research has been focused on cattle since they have been perceived as the primary host. Research in the field of VTEC in sheep and sheep-products has been limited. The aim of this study was to investigate the association between VTEC O157 isolates from sheep and VTEC infection in humans. In addition the study compared VTEC O157 isolates from sheep with isolates from cattle. 17 VTEC O157 isolates from sheep were included in the study. To characterize the VTEC O157 isolates, Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Multiple Loci Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) were used. PFGE analysis gave exact matches between isolates from sheep and isolates from humans diagnosed with VTEC O157 infection. The PFGE results also revealed matches between isolates from sheep and cattle. The MLVA profiles of the isolates with matching PFGE results were similar but not identical.

## SAMMANFATTNING

Verotoxinproducerande *E. coli*, VTEC är en zoonotisk bakterie som kan orsaka allvarlig sjukdom hos människa. Forskning kring VTEC har framför allt varit inriktad på nötkreatur vilka tidigt utpekades som en viktig smittkälla för människa. Förhållandevis få studier har gjorts på får och fårprodukter och kunskapsluckorna är stora både vad gäller förekomst och utbredning av VTEC hos detta djurslag. Syftet med denna studie var att utreda om får kan utgöra en smittkälla för människa vad gäller verotoxinbildande *E. coli* O157 samt att utreda om får och nötkreatur bär på samma stammar. Studien har utförts genom att med molekylärbiologiska metoder jämföra stammar av VTEC O157 som isolerats från får med stammar av VTEC O157 från människor som diagnosticerats med enterohemorragisk *E. coli* infektion samt med stammar isolerade från nötkreatur. I studien ingick 17 stammar av VTEC O157 isolerade från får. För att karaktärisera fårstammarna användes pulsfältgelelektrofores (PFGE) samt Multiple Loci Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). Resultaten från PFGE analysen visade exakt matchning mellan fårstammar och stammar isolerade från människor samt mellan en fårstam och stammar isolerade från nötkreatur. MLVA gav ingen perfekt matchning mellan fårstammar och humanstammar. Resultaten i studien visar att får utgör en potentiell smittkälla för människa vad gäller VTEC O157 samt att får och nötkreatur kan bära på samma stammar.

## INLEDNING

Under senare år har VTEC (verotoxinproducerande *E. coli*) uppmärksamats som ett allvarligt problem i Sverige. Orsakerna till uppmärksamheten är flera. Infektionen är zoonotisk och kan orsaka allvarlig sjukdom hos människa med svåra komplikationer som följd. Det är svårt att skydda sig och kontrollera VTEC-smitta eftersom smittdosen för sjukdom är mycket låg. Den vanligaste smittvägen till människa är via fekalt kontaminerade livsmedel. Smittöverföring kan dock även ske via badvatten, kontaminerad miljö och vid djurkontakter (anonym, 2007).

Det råder en viss begreppsförvirring vad gäller VTEC. De stammar av *Escherichia coli* som producerar verotoxin kallas verotoxinproducerande *E. coli*, VTEC. Samma toxiner kallas i vissa sammanhang istället för shigatoxin, varvid

stammarna kallas för shigatoxinproducerande *E. coli*, STEC. Inom humanmedicinen och i smittskyddslagen kallas samma stammar oftast enterohemorragiska *E. coli*, EHEC, eftersom bakterien ofta ger upphov till hemorragisk kolit hos människa (anonym, 2007).

Ungefär hälften av humanfallen i Sverige orsakas av VTEC O157. Övriga fall orsakas av andra serotyper av bakterien. Nötkreatur och produkter från nötkreatur har utpekats som viktigaste smittkällan för människor i Sverige. Efter nötkreatur är får och get de vanligaste bärarna av VTEC O157 (anonym, 2007).

Det finns få studier kring VTEC hos svenska får. Under 2007/2008 utfördes en prevalensstudie på svenska slakterier för VTEC O157 hos får. VTEC O157 påvisades i 1,8 % av träckproverna och i 1,9 % av öronproverna (Aspán, A., pers. medd., 2009). Andelen positiva prover från får verkar alltså ligga på något lägre nivåer än hos nötkreaturen som ligger på 3,4 % av träckproverna och 12 % av öronproverna (Boqvist *et al.*, 2009).

## LITTERATURÖVERSIKT

### Historik

I början av 1980-talet kom rapporter från USA om ett nytt smittämne som kunde orsaka allvarlig diarrésjukdom hos människa. *E.coli* O157:H7, en serotyp av *Escherichia coli*, påvisades i samband med sjukdomsutbrott som kunde kopplas till förtäring av hamburgare. Efter identifieringen av *E.coli* O157:H7 visade det sig snart att även andra stammar av *Escherichia coli* kunde orsaka liknande symtombild hos människa och de sjukdomsframkallande stammarna fick samlingsnamnet enterohemorragisk *E.coli*, EHEC. Efter utbrotten i USA har EHEC orsakat flertalet utbrott världen över (Källenius & Svensson 2001).

I Sverige finns ett fåtal rapporter om sjukdomsfall orsakade av VTEC fram till mitten av 1990-talet då antalet rapporterade fall började stiga. Från början rapporterades fallen på frivillig basis av laboratorierna. *E.coli* O157 blev upptagen som en anmälningspliktig sjukdom enligt smittskyddslagen 1996 och mellan 1995 och 2004 rapporterades 70 till 150 fall av per år. Under 2004 ändrades reglerna och alla serotyper av VTEC blev anmälningspliktiga. Efter 2004 har en ökning i antal fall setts men siffrorna är svåra att jämföra med tidigare rapportering på grund av förändringen i anmälningsreglerna (anonym, 2007).

De flesta konstaterade sjukdomsfall med VTEC i Sverige har varit sporadiska, men det har också förekommit ett antal utbrott där flera människor insjuknat. Två av utbrotten har varit stora livsmedelsutbrott. År 2002 insjuknade flera människor och smittan kunde spåras till kallrökt korv (Sartz *et al.*, 2008). 2005 inträffade ett stort livsmedelsutbrott på västkusten där människor blev sjuka efter att ha ätit sallad som bevattnats med fekal förorenat vatten (Söderström *et al.*, 2008).

### VTEC-bakterien

VTEC-bakterier hör till familjen Enterobacteriaceae och är serotyper av *Escherichia coli* som producerar verotoxin. De är fakultativt anaeroba gramnegativa stavar som finns i mag-tarmkanalen hos människa och varmblodiga djur (PEN, 2006).

Det finns över 200 serotyper av *E.coli* som producerar verotoxin. Den sjukdomsframkallande förmågan varierar mellan serotyperna. De serotyper som idag anses viktigast inom humanmedicinen är *E.coli* O157, O26, O111, O103 samt O145 (PEN, 2006). Den serotyp som oftast kopplas samman med humanfall och allvarlig sjukdom hos människa är VTEC O157:H7 (Karmali *et al.*, 2003).

VTEC-bakteriens förmåga att kolonisera och orsaka sjukdom styrs av en mängd olika virulensfaktorer. Produktionen av verotoxiner är central men flera andra virulensfaktorer har identifierats såsom förmågan att binda till tarmepitelceller samt produktion av proteiner som uttrycks från plasmiden pO157 (Ji Youn *et al.*, 2010).

Verotoxiner är cytotoxiska och påverkar den infekterade cellens proteinsyntes. Det finns två huvudtyper av verotoxin, Vt1 och Vt2, vilka kan indelas i ytterligare undergrupper. Vilket toxin eller kombination av toxiner som bakterien producerar påverkar den sjukdomsframkallande förmågan. Övergripande kan sägas att Vt2 är det toxin som orsakar de allvarligaste symtomen hos människa medan Vt1 och en kombination av Vt1 och Vt2 verkar orsaka mildare sjukdom (PEN, 2006). Sambandet mellan toxintyp och sjukdomsframkallande förmåga kompliceras dock av vilken undergrupp toxinet hör till. Vissa serotyper av VTEC har Vt2-undergrupper som ger mildare symtom (anonym, 2007).

Intimin är en adhesionsfaktor som gör att bakterien kan fästa till tarmmukosan och har visat sig vara mycket viktig för bakteriens förmåga att infektera. Andra viktiga virulensfaktorer hos VTEC är proteiner som ökar förmågan att fästa till värdceller samt faktorer som hämmar immunförsvarets lymfocytsvar och fagocytos (PEN, 2006).

En viktig egenskap hos VTEC är den mycket låga infektionsdosen som är mindre än 100 bakterier. VTEC har god överlevnad i både miljö och gödsel och kan tillväxa i både närvaro och frånvaro av syre. Vissa serotyper, bl.a. O157:H7 är mycket syratoleranta och kan tillväxa vid pH ner till 3,9 beroende på typ av syra. Vid låga temperaturer ökar överlevnaden och tillväxt kan ske från 7,5 till 49 °C. Temperaturen påverkar även salttoleransen och tillväxt är möjlig vid salthalter upp till 8,5 %. Lägsta vattenaktivitet för tillväxt är 0.95 (anonym, 2007).

## **Smittkällor**

Tama idisslare såsom nötkreatur, får och get bär *E.coli* O157:H7 i tarmkanalen utan att själva bli sjuka (Ogden *et al.*, 2005). Människor kan smittas både genom direkt och indirekt kontakt med idisslare och träck. Den vanligaste smittvägen till människa är via fekal kontaminerade livsmedel. Livsmedel som varit källa till smitta är bl.a. färskt kött och köttprodukter, fermenterade köttprodukter, opastöriserade mjölkprodukter, kontaminerad frukt och grönsaker samt dricksvatten. Det har också förekommit fall med smittspridning mellan människor. Eftersom VTEC har god överlevnad i miljön utgör områden där både djur och människor vistas en viktig smittkälla. Betande djur i anslutning till badstränder och picknick på betesmark kan anses utgöra riskfaktorer för smitta till människa (anonym, 2007).



## **VTEC hos människa**

Sjukdomsbilden vid infektion med VTEC kan vara mycket varierande. Vissa fall förlöper symtomfritt eller med mild diarré. Traditionellt förknippas VTEC med hemorragisk kolit. VTEC associeras också med hemolytiskt-uremiskt syndrom, HUS. Mellan fem och tio procent av personer som drabbas av infektion med VTEC utvecklar HUS, små barn och äldre människor löper störst risk. HUS är ett allvarligt symtomkomplex med kraftig njurpåverkan, trombocytopeni och hemolytisk anemi som ibland trots intensivvård leder till dödsfall. Andra förekommande komplikationer är neurologiska symtom och trombotisk trombocytopen purpura, TTP (Pai *et al.*, 1984; Ryan *et al.*, 1986). Dödsfall till följd av VTEC infektion är ovanligt i Sverige. År 2008 avled dock två barn av komplikationer efter VTEC infektion (SMI, 2009a).

Sverige är ett av de länder i världen som rapporterar högst incidens av VTEC infektion (Chase-Topping *et al.*, 2008). Under 2009 anmäldes totalt 228 fall av VTEC hos människa varav ungefär hälften smittats i Sverige. Tidigare har andelen inhemska fall varit högre än de utlandssmittade men trenden verkar ha vänt och man ser nu en ökande andel fall som smittats utomlands (SMI, 2009b).

Det finns i Sverige stora skillnader i den geografiska spridningen vad gäller incidensen av VTEC med inhemskt ursprung. Högst incidens ses i Hallands, Jönköpings och Västra Götalands län. Orsaken till spridningen är inte systematiskt undersökt men misstänks ha samband med geografisk spridning av VTEC bland djur. Det finns också skillnader vad gäller provtagningspolicy i de olika landstingen (anonym, 2007).

## **VTEC hos djur**

Nötkreatur anses vara den viktigaste smittkällan för VTEC såväl i Sverige som internationellt och de flesta studier som gjorts kring VTEC har inriktats på nötkreatur. I Sverige har VTEC isolerats från flera djurslag. Förutom nötkreatur är får det djurslag som tros vara en viktig potentiell smittkälla vad gäller VTEC (anonym, 2007).

De flesta fall med VTEC positiva djur har visat sig förlöpa symtomfritt. Vissa serotyper kan dock orsaka diarré hos unga djur bl.a. O5, O8, O20, O26, O103, O111, O118 och O145 (PEN, 2006). Att infektionen förlöper utan sjukdomssymtom hos de flesta djur innebär att åtgärdsarbetet kring VTEC försvåras (anonym, 2007).

VTEC smittar fekalt-oralt och isoleras i högre grad från unga djur än vuxna (anonym, 2007).

Prevalensen för VTEC hos djur varierar mycket mellan olika länder. Prevalensstudier är dock ofta svåra att jämföra eftersom olika metoder används i olika studier. USA, Kanada, Storbritannien, Danmark och Sverige verkar dock ligga högt vad gäller prevalens i nötkreaturbesättningar vid internationell jämförelse (Eriksson, 2010).

I Sverige har man utfört regelbundna slakteriprevalensstudier på nötkreatur vad gäller VTEC O157 sedan 1996. Vid den senaste studien (2005/2006) påvisades

VTEC O157 i 3,4 % av träckproverna och 12 % av öronproverna (Boqvist *et al.*, 2009).

### **VTEC hos får**

Det finns jämfört med nötkreatur få studier kring VTEC hos får. Nötkreatur utpekades tidigt som smittkälla och de flesta undersökningar riktades mot det djurslaget. På senare tid har dock får visat sig vara en viktig reservoar för VTEC (La Ragione *et al.*, 2009). Samtidigt ökar konsumtionen av fjärrnäringens produkter i Sverige (Jordbruksverket, 2010). Även internationellt sett ökar fjärrnäringen och tillgängligheten av fjärrprodukter såsom mjölk och opastöriserade ostar (La Ragione *et al.*, 2009). Eftersom slakt av får skulle kunna innebära en större risk för kontamination av köttet jämfört med nötkreaturslakt finns farhågor om ökad risk för smittspridning till människa (Aspán, A., pers. medd., 2009).

Det finns rapporter som visar att prevalensen av VTEC hos får är högre än hos nötkreatur (PEN, 2006). Andra rapporter visar tvärtom att prevalensen hos får är lägre än hos nötkreatur men att andelen kontaminerade livsmedel gjorda på fjärrprodukter är högre än andelen kontaminerade nötkreaturprodukter (Chapman *et al.*, 2001).

Under 2006 kopplades två fårbesättningar till humanfall med VTEC. VTEC O157 samt VTEC O103 isolerades från besättningarna (Svensk zoonosrapport, 2006).

Under 2007/2008 utfördes en prevalensstudie på svenska slakterier för VTEC O157 hos får (Tabell 1). Prover togs på nio av Scans slakterier belägna i Linköping, Skara, Visby, Kävlinge, Uppsala, Rättvik, Skellefteå, Ullånger och Krylbo. Antal prover som togs ut var proportionerligt till hur mycket får de olika slakterierna slaktar. Provtagningen på de olika slakterierna fördelades även proportionerligt över året så att fler prover togs ut under de perioder av året när slakterierna slaktade fler får. Totalt analyserades 500 träckprover och 105 öronprover. VTEC O157 påvisades i 1,8 % av träckproverna och i 1,9 % av öronproverna. Yngre djur visade sig vara positiva i större utsträckning än äldre och spridningen av VTEC O157 verkar vara begränsad till södra Sverige. Prover från öronen togs för att utreda hur vanligt det är att fåren bär VTEC O157 på huden (Aspán, A., pers. medd., 2009). Bland nötkreatur har undersökningar visat att en större andel djur är positiva för VTEC O157 på huden än i träckproverna (Boqvist *et al.*, 2009). Eftersom det är svårt att slakta får utan viss kontamination av slaktkropparna skulle en stor andel kontaminerade hudar kunna innebära ökad smittrisk. Hos får sågs dock inte någon betydande skillnad i andel positiva prover från öron och träck. De isolerade stammarna typades med multiplex PCR-teknik för att undersöka om bakterierna hade gener som kodar för sjukdomsframkallande egenskaper som verotoxin (Vt1, Vt2), intimin (*eaeA*) och enterohemolysin (Hly) samt för H7 som är en klonal markör för VTEC O157:H7 (Aspán, A., pers. medd., 2009).

### **SYFTE**

Studien är ett delprojekt i den prevalensundersökning för verotoxinbildande *E. coli* O157 hos får som utfördes på slakterier under 2007/2008.

Syftet med studien var att utreda om får kan utgöra en smittkälla för människa vad gäller verotoxinbildande *E. coli* O157. Stammar av VTEC O157 från får jämfördes även med VTEC O157 stammar från prevalensstudier på nötkreatur för att se om får och nötkreatur bär på samma stammar.

## MATERIAL OCH METODER

Studien utfördes genom att med molekylärbiologiska metoder jämföra de stammar av VTEC O157 som isolerats från får vid prevalensundersökningen 2007/2008 med stammar av VTEC O157 från människor som diagnosticerats med enterohemorragisk *E. coli* infektion samt med stammar av VTEC O157 isolerade från nötkreatur.

### Djurmateriel

I studien ingår de 17 stammar av VTEC O157 som isolerats från får vid slakteriprevalensundersökningen 2007/2008 (Tabell 1).

*Tabell 1. Sammanställning av positiva träck- och öronprover samt resultat från PCR undersökning av VTEC O157 stammar isolerade från får 2007/2008 (Aspán, A., pers. medd., 2009)*

Stamnummer	Slakteri	Provmaterial	Resultat av PCR-undersökning				
			Vt1	Vt2	eaeA	Hly	H7
08-BKT005515	Ks 53 Linköping	Träck	-	+	+	+	+
08-BKT008080	Ks 53 Linköping	Träck	-	+	+	+	+
08-BKT045237	Ks 53 Linköping	Träck	-	+	+	+	+
08-BKT045239	Ks 53 Linköping	Träck	-	+	+	+	+
08-BKT045241	Ks 53 Linköping	Öra	-	+	+	+	+
08-BKT036780	Ks 81 Skara	Öra	-	+	+	+	+
08-BKT042292	Ks 81 Skara	Träck	-	+	+	+	+
08-BKT042293	Ks 81 Skara	Träck	-	+	+	+	+
07-BKT034471	Ks 83 Kävlinge	Träck	+	+	+	+	+
07-BKT035158	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039835	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039838	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039840	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039841	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039842	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039843	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+
08-BKT039845	KS 78 Visby	Träck	+	-	+	+	+

De 116 stammar av VTEC O157 från nötkreatur som har använts kommer från den slakteriprevalensstudie som utfördes under 2005/2006 (Boqvist *et al.*, 2009).

## **Humanmaterial**

Smittskyddsinstitutet sparar alla typningsresultat av verotoxinbildande *E. coli* O157 som isolerats från människor i en databas. Fram till 2008 karaktäriserades stammarna med pulsfältgelelektrofores (PFGE). Under 2008 började man på Smittskyddsinstitutet att parallellt med PFGE subtypa stammarna med den relativt nya metoden Multiple Loci Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) (Löfdahl, S., pers. medd., 2009). Databasen vid Smittskyddsinstitutet har använts för att kunna jämföra studiens fårstammar med stammar som orsakat sjukdom hos människa. PFGE resultaten för fårstammarna har jämförts med 850 humanisolat från 2001 och framåt. MLVA resultaten har jämförts med 110 humanisolat från 2008 och framåt.

## **Analys**

För att karaktärisera fårstammarna har två olika metoder använts. Metoderna har valts ut för att kunna jämföra resultaten med tidigare erhållna resultat från stammar som isolerats från människor och nötkreatur vid Smittskyddsinstitutet och Statens Veterinärmedicinska Anstalt.

För att kunna jämföra fårstammarna mot Smittskyddsinstitutets humandatabas har stammarna analyserats vid Smittskyddsinstitutets avdelning för bakteriologi.

Jämförelsen med VTEC stammar från prevalensstudier på nötkreatur har utförts vid Statens veterinärmedicinska anstalt och fårstammarna har därför analyserats även där.

## **PFGE**

PFGE (pulsfältgelelektrofores) är en metod för att differentiera olika bakteriekloner. Bakteriens DNA behandlas med restriktionsenzymer som klipper DNA i stora fragment. DNA-fragmenten separeras genom gelelektrofores där de negativt laddade DNA-fragmenten vandrar längs det elektriska fältet mot den positiva sidan. De bandmönster som bildas kan sedan användas för att jämföra olika isolat (Monsen *et al.*, 1996).

## **MLVA**

MLVA (Multiple Loci Variable Number Tandem Repeat Analysis) är en fragmentanalysmetod för DNA-baserad subtypning. I bakteriers DNA finns repetitiva element där samma genetiska kod upprepas flera gånger. Dessa upprepningar förekommer i olika antal hos olika bakterier. Antalet repetitioner är instabilt vilket ger en genetisk variation hos olika isolat. Metoden går ut på att analysera hur många gånger de repetitiva elementen förekommer hos bakterien. Genom PCR amplifiering av dessa regioner i bakteriens DNA fås fragment vars längd bestäms via kapillärelektrofores. För VTEC O157 analyseras 8 repetitiva element och genom att bestämma hur många gånger elementen förekommer får isolatet en 8-siffrig kod. De repetitiva elementen benämns VNTR 3, 34, 9, 25, 17, 19, 36 och 37. Om PCR-amplifieringen av ett repetitivt element av någon anledning inte fungerar för ett visst isolat indikeras det genom att ersätta siffran

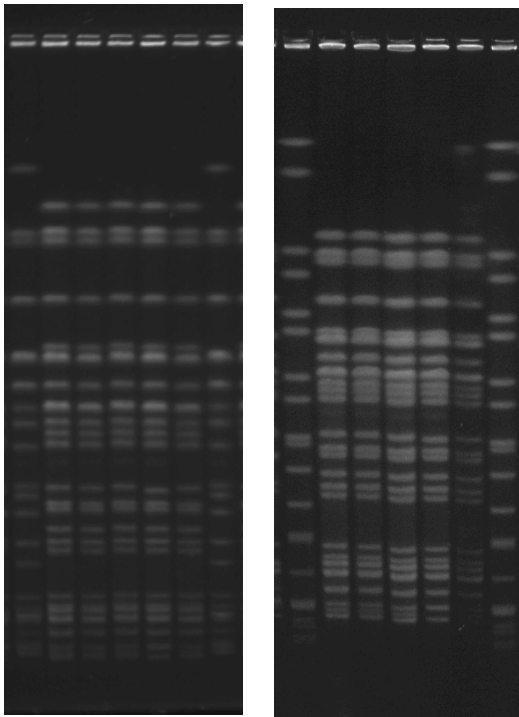
med "NA". Isolat kan därefter jämföras och de isolat som har identiska siffersekvenser kan anses ha samma ursprung (Aspán, A., pers. medd., 2009).

## RESULTAT

### PFGE metoden

PFGE analyser är svåra att jämföra mellan olika laboratorier (Noller *et al.*, 2003). För att få resultat som var jämförbara med isolat från både människa och nötkreatur analyserades fårisolaten med PFGE både vid Smittskyddsinstitutet och vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt.

*Bild 1. Skillnad i vandrigen på gelerna med olika program från SMI och SVA.*



### **Jämförelse mellan fårstammar och humanstammar**

Då PFGE resultaten vid Smittskyddsinstitutet för fårstammarna jämfördes med 850 humanisolat från 2001 och framåt hittades 2 humanstammar som matchade 3 fårstammar. De matchande humanstammarna var isolerade från Linköping 2003 samt från Halmstad 2008. Resultaten redovisas i PFGE dendrogrammet (Bild 2).

**Jämförelse mellan fårstammar och stammar från nötkreatur**

Då PFGE resultaten vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt för fårstammarna jämfördes med nötkreaturisolat från slakteriprevalensstudien 2005/2006 (Boqvist



Samma mönster som sågs hos de matchande får- och nötkreaturstammarna sågs hos den matchande humanstammen från Linköping 2003.

SB

Dice (Opt0.50%) (Tol 1.0%-1.5%) (H-0.0%-5-0.0%) (D-0%-100.0%)

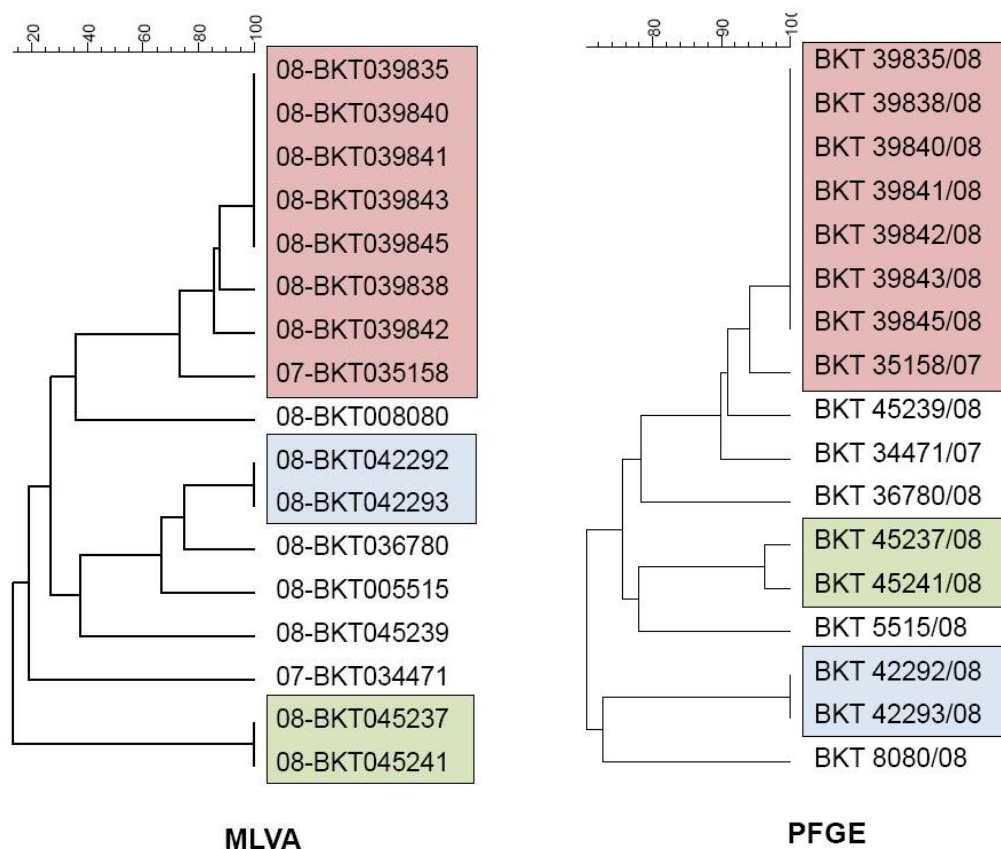
Heatmap visualization showing SB values for various samples. The color scale ranges from 0 (dark) to 100 (light). The samples are grouped into several clusters, with some showing high SB values (lighter) and others showing low SB values (darker).

SB

Dice (Opt0.50%) (Tol 1.0%-1.5%) (H-0.0%-5-0.0%) (D-0%-100.0%)

Heatmap visualization showing SB values for various samples. The color scale ranges from 0 (dark) to 100 (light). The samples are grouped into several clusters, with some showing high SB values (lighter) and others showing low SB values (darker).

Bild 4. PFGE samt MLVA dendrogram för fårstammarna vid SVA.



## MLVA metoden

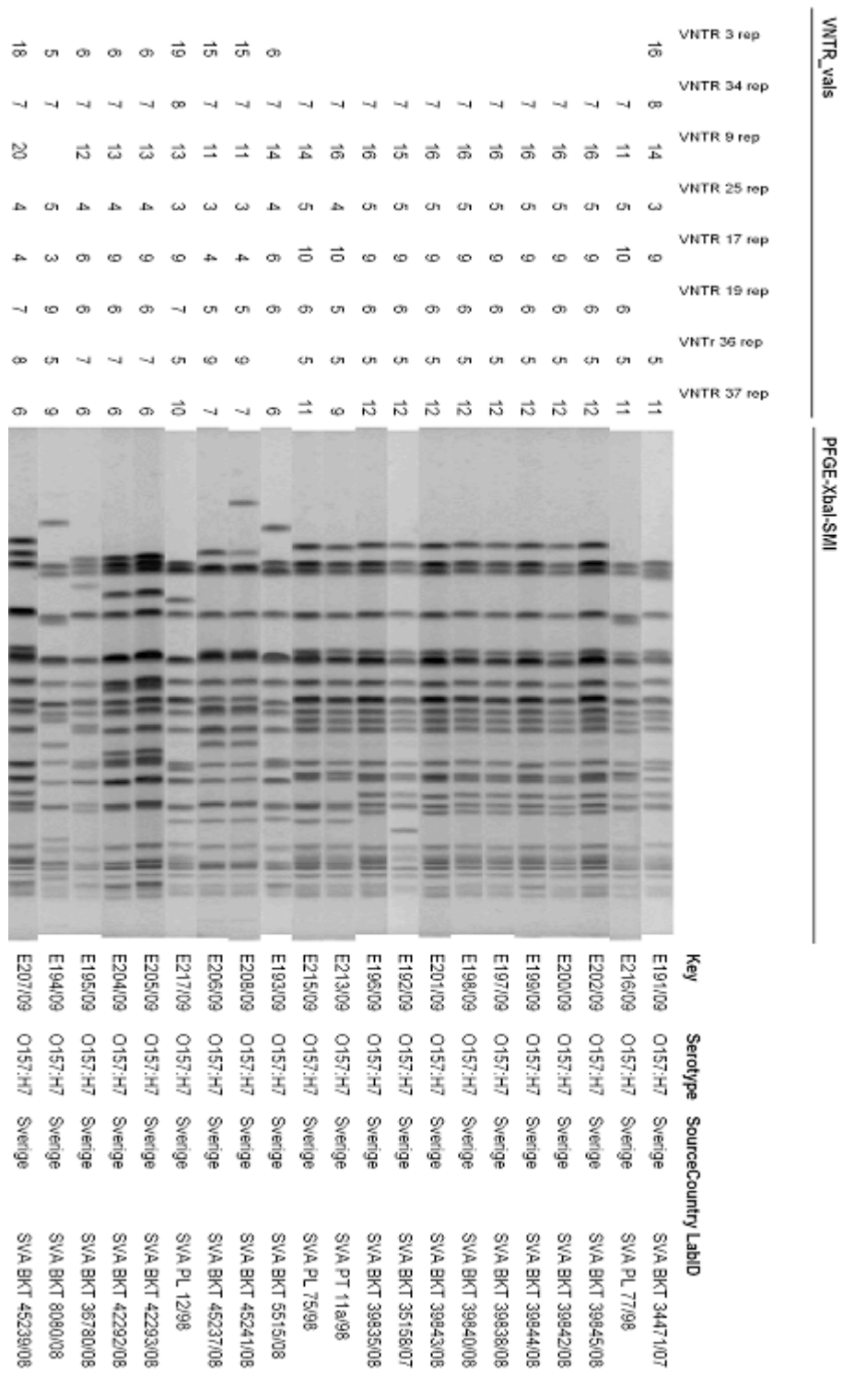
### Jämförelse mellan fårstammar och humanstammar

MLVA gav ingen perfekt matchning mellan fårstammar och humanstammar. 110 humanisolat jämfördes med studiens fårstammar. MLVA metoden gav större skillnader i resultaten jämfört med PFGE. MLVA visade å andra sidan identiska resultat för två fårstammar (45237/08 och 45241/08) som skiljde sig något i PFGE resultaten från SVA. Endast en av de 2 humanstammarna som matchade fårstammar med PFGE är analyserad med MLVA vid SMI. Med MLVA skilde sig får- och humanstammen, dock var skillnaderna små. Fårisolatets (34471/07) sifferkod var 16-8-14-3-9-7-5-11. Humanisolatets (E162/08) sifferkod var 20-NA-14-3-9-7-5-11. Nötkreaturstammarna analyserades inte med MLVA.

MLVA är en relativt ny metod och erfarenheten av att tolka resultaten begränsad, vilket innebär att man endast vågar bedöma isolat med identiska sifferkoder att vara av gemensamt ursprung.



*Bild 5. MLVA och PFGE resultat från SMI på fårstammar av VTEC O157. Stammar med SVA PL-prefix ingår ej i studien.*



## DISKUSSION

Resultatet i studien visar att får utgör en potentiell smittkälla för människa vad gäller VTEC O157. En av de fårstammar av VTEC O157 som med PFGE matchade en stam som isolerats från människa matchade även stammar som isolerats från nötkreatur. Huruvida humanfallet smittats från får eller nötkreatur kan man inte uttala sig om. För att kunna säkerställa smittkällan krävs ytterligare information kring den aktuella patienten. Intressant är dock det geografiska sambandet där det matchande humanfallet från 2003 kom från Linköping samtidigt som såväl fårstammarna (45337/08, 45241/08) som de matchande nötkreaturstammarna 2005/2006 (Boqvist *et al.*, 2009) kom från Linköpings slakteri. Tidsmässigt sträcker sig sambandet över en förvånansvärt lång tid vilket leder till frågan hur länge stammarna kan cirkulera. Även vad gäller humanstammen från Halmstad och fårstammen (34471/08) från Kävlinge kan ett geografiskt samband ses vilket styrker att lokal smittspridning kan vara viktigt mellan får och människa.

Den här studien visar att får och nötkreatur kan bära på samma stammar vilket tyder på att stammarna kan cirkulera mellan de olika djurslagen. Resultaten har relevans vid riskbedömningar inom livsmedelskedjan samt vid epidemiologiska utredningar vad gäller VTEC O157. Fler studier krävs dock för att utreda i hur stor utsträckning får och nötkreatur bär på samma stammar och huruvida fårens stammar skiljer sig från nötkreaturens vad gäller sjukdomsframkallande förmåga.

Vid studier som involverar flera laboratorier måste arbetet samordnas. Många analyser såsom PFGE är svåra att jämföra mellan laboratorier (Noller *et al.*, 2003). En ökad samordning av analysmetoder mellan de statliga laboratorierna skulle underlätta arbetet kring zoonoser som VTEC O157. Resultaten från PFGE analysen skilde sig mellan Smittskyddsinstitutet och Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Vid Smittskyddsinstitutet klassades två av fårisolaten (45237/08 samt 45241/08) som identiska medan Statens Veterinärmedicinska Anstalt hittade en liten skillnad mellan dessa isolat vilket ger olika antal matcher mellan fårisolat och humanisolat.

Vid studiens jämförelse mellan stammar isolerade från människor och får gav endast PFGE metoden ett positivt resultat med matchning mellan humanstammar och fårstammar. MLVA metoden är en relativt ny metod med begränsad erfarenhet hur resultaten ska tolkas. Då MLVA metoden endast använts på VTEC O157 sedan 2008 på Smittskyddsinstitutet kunde färre humanstammar jämföras med fårstammar med denna metod. En fårstam som matchade en humanstam med PFGE skilde sig med MLVA, skillnaderna var dock små. Vid tolkning anses idag endast isolat med identiska sifferkoder vara av gemensamt ursprung (Aspán, A., pers. medd., 2009). MLVA metoden har fördelen att det är lättare att jämföra resultat mellan olika laboratorier (Noller *et al.*, 2003). För att förbättra tolkningen av metoden krävs fler analyser och ökad erfarenhet. De repetitiva elementen i bakteriernas DNA som analyseras vid MLVA är instabila. Fler analyser skulle kunna ge information om huruvida instabiliteten kan ge förändringar som uppstår så snabbt att skillnader uppkommer under ett utbrott (Noller *et al.*, 2003).

Kunskapsluckorna är stora vad gäller VTEC O157 och övriga serotyper hos får. Fler studier krävs för att utreda förekomst, utbredning och betydelse av VTEC hos får.

## LITTERATURFÖRTECKNING

Anonym (2007), Livsmedelsverkets riskprofil. Verotoxinbildande *E.coli* – VTEC-bakteriers smittvägar, förekomst samt risker för folkhälsan [online]. Tillgänglig:

[http://www.slv.se/upload/dokument/risker/bakterier/riskprofil\\_ehec\\_2007.pdf](http://www.slv.se/upload/dokument/risker/bakterier/riskprofil_ehec_2007.pdf)  
[2010-01-18].

Aspán, A. Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Personligt meddelande, 2009-12-11.

Boqvist, S., Aspán, A. & Eriksson, E. (2009) Prevalence of *Verotoxigenic Escherichia coli* O157:H7 in Fecal and Ear Samples from Slaughtered Cattle in Sweden. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 8, 1709-1712.

Chapman, P. A., Cerdán Malo, A.T., Ellin, M., Ashton, R. & Harkin, M.A. (2001) *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *International Journal of Food Microbiology* 64, 139-150.

Chase-Topping, M., Gally, D., Low, C., Matthews, L. & Woolhouse, M. (2008) Super-shedding and the link between human infection and livestock carriage of *Escherichia coli* O 157. *Nature Reviews Microbiology* 6(12), 904-912.

Eriksson, E. (2010) *Verotoxinogenic Escherichia coli* O157:H7 in Swedish Cattle and Pigs. Doctoral thesis. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.

Ji Youn, L., Yoon, J.W. & Hovde, C.J. (2010) A Brief Overview of *Escherichia coli* O 157:H7 and Its Plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20(1), 1-10.

Jordbruksverket (2010) *Animalieproduktion, serier från och med 1990* [online]. Statistik animalieproduktion tillgänglig:  
<http://www.jordbruksverket.se/download/18.76ca33bb127af0b508c80004518/animprodexcelgamlafil.xls> [2010-04-29]

Karmali, M.A., Mascarenhas, M., Shen, S., Ziebell, K., Johnson, S., Reid-Smith, R., Isaac-Renton, J., Clark, C., Rahn, K. & Kaper, J.B. (2003) Association of genomic O island 122 of *Escherichia coli* DL 933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and/or serious disease. *Journal of Clinical Microbiology* 34(11), 4930-4940.

Källénus, G. & Svensson, S.B. (2001) *Zoonoser*. Studentlitteratur, Lund.

La Ragione, R.M., Best, A., Woodward, M.J. & Wales, A.D. (2009) *Escherichia coli* O 157:H7 colonization in small domestic ruminants. *FEMS Microbiology Reviews* 33, 394-410.

Löfdahl, S. Smittskyddsinstitutet. Personligt meddelande, 2009-05-06.

Monsen, T., Wiström, J., Lundholm, R. & Holm, S. (1996) *Läkartidningen* Vol. 93, Nr. 30-31, 2685-2687.

Noller, A.C., McEllistrem, M.C., Pacheco, A.G.F., Boxrud, D.J. & Harrison, L.H. (2003) Multilocus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Distinguishes Outbreak and Sporadic *Escherichia coli* O157:H7 Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 41(12), 5389-5397.

Ogden, I.D., MacRae, M. & Strachan, N.J.C. (2005) Concentration and prevalence of *Escherichia coli* O157 in sheep faeces at pasture in Scotland. *Journal of Applied Microbiology* 98, 646-651.

Pai, C.H., Gordon, R., Sims, H.V. & Bryan, L.E. (1984) Sporadic cases of hemorrhagic colitis associated with *Escherichia coli* O157:H7. *Annals of Internal Medicine* 101, 738-742.

PEN (2006) *Pathogenicity, Virulence and Emerging pathogenic Escherichia coli* [online]. Pathogenic *Escherichia coli* Network tillgänglig: <http://www.pen-europe.eu/images/sites/assets/Epidemiology-and-Transmission.pdf> [2009-12-21].

Ryan, C.A., Tauxe, R.V., Hisek, G.W., Wells, J.G., Stoesz, P.A., McFadden, H.W. Jr., Smith, P.W., Wright, G.F. & Blake, P.A. (1986) *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in a nursing home: clinical, epidemiological and pathological findings. *The Journal of Infectious Disease* 154, 631-638.

Sartz, L., De Jong, B., Hjertqvist, M., Plym-Forsell, L., Alsterlund, R., Löfdahl, S., Osterman, B., Ståhl, A., Eriksson, E., Hansson, H.-B. & Karpman, D. (2008) An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in southern Sweden associated with consumption of fermented sausage; aspects of sausage production that increase the risk of contamination. *Epidemiology and Infection* 136, 370-380.

SMI (2009a). *Statistik för Enterohemorrhagisk E. coli infektion (EHEC)* [online]. Smittskyddsinstitutet tillgänglig: <http://www.smi.se/statistik/enterohemorrhagisk-e-coli-infektion-ehec/?t=com#statistics-nav> [2010-04-28].

SMI (2009b). *Statistik för Enterohemorrhagisk E. coli infektion (EHEC)* [online]. Smittskyddsinstitutet tillgänglig: <http://www.smi.se/statistik/enterohemorrhagisk-e-coli-infektion-ehec/?y=2009#statistics-nav> [2010-04-28].

Svensk zoonosrapport (2006) [online]. Statens Veterinärmedicinska Anstalt tillgänglig: <http://www.sva.se/upload/pdf/Tj%c3%a4nster%20och%20produkter/Trycksaker/Zoonosrapport%202006.pdf> [2010-04-27].

Söderström, A., Österberg, A., Lindqvist, B., Lindberg, A., Blide Ulander, S., Weinder-Olsson, C., Löfdahl, S., Kaijser, B., De Jong, B., Kühlmann-Berenzon, S., Boqvist, S., Eriksson, E., Szanto, E., Andersson, S., Allenstam, G., Hedenström, I., Ledet Muller, L. & Andersson, Y. (2008) A Large *Escherichia*

*coli* O157 Outbreak in Sweden Associated with Locally Produced Lettuce.  
*Foodborne Pathogenes and Disease* 5(3), 339-349.

## **TACK TILL**

Anna Aspán

Ingela Hedenström

Sven Löfdahl

Hanna Skarin

Robert Söderlund

Madeleine Tråven